مقایسه کنترل شیمیایی و بیولوژیکی بیماری پژمردگی فوزاریومی زیره‌سبز *(Fusarium oxysporum f.sp. cumini)* در شرایط آزمایشگاه و گلخانه

رضا اقنوم، ماهرخ فلاحتی رستگار و بهروز جعفرپور

به ترتیب دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، دانشیار و استاد گروه گیاه‌پزشکی

دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد

تاریخ پذیرش مقاله ۷۸/۷/۷

خلاصه

پژمردگی فوزاریومی زیره‌سبز *(Fusarium oxysporum f.sp. cumini)* مهمترین بیماری این زراعت در استان خراسان است و همه ساله خسارت زیادی وارد می‌کند. در این بررسی اثر ٦ جدایه آنتاگونیست و ۴ قارچکش در کنترل بیماری در شرایط آزمایشگاه و گلخانه مطالعه شد. قارچهای آنتاگونیست از خاک بعضی مناطق زیره کاری خراسان جداسازی و آنها *Trichoderma harzianum* و *Gliocladium virens* تشخیص داده شدند. از *T.harzianum* ۴ جدایه (T_1-T_4) و از *G.virens* دو جدایه (G_1 و G_2) برای آزمایشات در نظر گرفته شدند. مطالعات میکروسکوپی نشان داد که تریکودرما و گلیوکلادیوم با تماس و پیچش هیفی باعث تغییر شکل و تخریب هیف‌های فوزاریوم می‌شوند. رقابت تغذیه‌ای آنتاگونیست‌ها با فوزاریوم در کشت دوطرفه موجب کاهش رشد میسلیوم قارچ بیماریزا گردید. اثر ممانعت کنندگی ترکیبات فرار کشت ٩٦ ساعته جدایه T_4 با ۴٦/۰۸٪ جلوگیری از رشد میسلیوم فوزاریوم بیشتر از سایر جدایه‌ها بود و ترشحات مایع خارج سلولی جدایه G_1 در غلظت ۳۰٪ با ۳٦/٦۲٪ بیشترین تأثیر را در جلوگیری از رشد میسلیوم فوزاریوم داشت. قارچکش‌های بنومیل، رورال (ایپرودیون + کاربندازیم)، کربوکسین تیرام و کاپتان در غلظت ۱۰ میلی‌گرم در لیتر با محیط کشت PDA به ترتیب ۱۰۰٪، ۸۵/۳۹٪ و ۴۵/۸۸٪ از رشد میسلیوم فوزایوم ممانعت کردند مقادیر غلظت مؤثر ۵۰٪ (EC_{50}) قارچکشها به ترتیب عبارت است از ۱/٦۳، ۱/۸٦، ٦/۸۵ و ۱۴/۱۸ میلی‌گرم در لیتر. در بررسی‌های گلخانه‌ای، پوشش دادن بذر با اسپور *T.harzianum* جدایه T_2 با ٦۵/۴٪ کاهش بیماری اثر بهتری از ضدعفونی بذر با قارچکشها داشت. افزودن مایه تریکودرما و گلیوکلادیوم تکثیر شده بر روی سبوس گندم تخمیر شده به خاک، بیماری را تا حد قابل ملاحظه‌ای کنترل کرد. جدایه T_2 با ٦۲/۵٪ کاهش بیماری درمقایسه با شاهد آلوده، از سایر جدایه‌ها مؤثرترین بود. بطورکلی می‌توان نتیجه گرفت که *T.harzianum* و *G.virens* می‌توانند بعنوان آنتاگونیست‌های مناسبی برای کنترل بیولوژیکی این بیماری مورد توجه قرار گیرند.

واژه های کلیدی : پژمردگی فوزاریومی، مبارزه بیولوژیک

مقدمه

زیره‌سبز زراعی با نام علمی *Cuminum cyminum L.* از تیره چتریان (Apiaceae) یکی از گیاهان دارویی ارزشمند است و بعلت دارا بودن خواص متعدد دارای امتیازات زیادی می‌باشد که

زارعین کشور خصوصاً در خراسان اقدام به کشت آن می‌کنند. بیماری پژمردگی فوزاریومی یکی از مهمترین بیماریهای زیره‌سبز در خراسان است که همه ساله خسارت زیادی وارد می‌کند(۲). عامل بیماری *(Fusarium oxysporum f.sp. cumini Prasad & Patel)* قارچی خاکزاد و بذرزاد بوده که گیاه در تمام مراحل رشد نسبت به آن حساس است (۲ و ۲۱). لذا کنترل بیماری مشکل می‌باشد. اعتقاد بر آنستکه بهترین روش کنترل این بیماری استفاده از واریته‌های مقاوم می‌باشد. اما تلاش محققین مختلف برای یافتن واریته‌هایی با مقاومت کامل تاکنون بی‌نتیجه مانده است(۱۰). مبارزه شیمیایی شامل ضدعفونی بذر با قارچکشها و کاربرد آفت کشهای مختلف در خاک برای کنترل بیماری توسط برخی از محققین مورد بررسی قرار گرفته و نقش بعضی از آنها در کنترل بیماری مؤثر گزارش شده است(۱۱). با توجه به اثرات سوءناشی از مصرف آفت کشهای شیمیایی امروزه بسیاری از کشورها درصدد کاهش استفاده از سموم شیمیایی و جایگزین نمودن مبارزه شیمیایی با سایر روشها می‌باشند که مبارزه بیولوژیکی ازجمله این روشهاست(۳).

قارچهای آنتاگونیست *Trichoderma pers, ex Fr.* و *Gliocladium virens Miller & Forster* ساپروفیت‌های خاکزی بسیار مهاجمی هستند که سرعت رشد، قدرت رقابت و بقاء ساپروفیتی بالایی دارند(۲۳). تحقیقات انجام شده در مورد کنترل بیولوژیک قارچهای بیماریزای گیاهی خاکزاد، غالباً نشانگر این است که گونه‌های تریکودرما در زمره امیدبخش‌ترین عوامل کنترل کننده بیولوژیک می‌باشند(۱۲). این قارچها با تولید ترکیبات آنتی‌بیوتیکی فرار و غیرفرار، تولید آنزیمهای متلاشی کننده دیواره سلولی مانند کیتیناز، گلوکاناز و سلولاز و نیز عمل میکوپارازیتیسم باعث متلاشی شدن ریسه‌ها و ایجاد اختلالات فیزیولوژیکی در قارچهای بیماریزای گیاهی می‌شوند. همچنین قارچها برای منابع غذایی و مکان با قارچهای بیماریزا رقابت می‌کنند(۲۶). سیوان و چت(۲۵) گزارش کردند که پوشش دادن بذر پنبه و خربزه با *T. harzianum Rifai* منجر به کلونیزه شدن ریزوسفر بوسیله این آنتاگونیست شده و باعث ممانعت از جوانه‌زنی کلامیدوسپور و کاهش جمعیت قارچهای بیماریزای خاکزاد و مهمی همچون *F. oxysporum f.sp. melonis Snyder & Hansen* و *Fusarium oxysporum f.sp. vasinfectum(Atk.) Snyder & Hansen* در محیط ریزوسفر می‌شوند.

چانگ و چوی(۱۳) گزارش کردند که عامل بیماری مرگ گیاهچه کنجد *F.oxysporum f.sp. sesami(Zaprometoff) Castellani* بوسیله پوشش دادن بذر با اسپور *T.viride Pers. ex. Gray* در شرایط گلخانه و مزرعه کاهش می‌یابد. دی‌ونایمود(۱۵) توانستند بیماری پژمردگی فوزاریومی نخود *F.oxysporum f.sp. ciceri (Padw.) Matuo & Sato* را با پوشش دادن بذر با *Gliocladium sp.* و *Trichoderma Spp.* تاحد قابل ملاحظه‌ای کنترل کنند.

روحانی و همکاران(۴) اثر چند جدایه تریکودرما را روی قارچ *Rhizoctonia solani Kuehn* عامل پوسیدگی جوانه و استولن سیب‌زمینی بررسی کرده و اثر آنها را در کاهش بیماری مؤثر گزارش کردند. نظری(۶) اثر چند جدایه *T.harzianum* روی *Phytophthora drechsleri Tucker* عامل بوته میری خیار را بررسی کرده و نتیجه گرفت که تریکودرما باعث کاهش بیماری و افزایش رشد گیاه می‌شود. نیک‌نژاد کاظم‌پور(۷) اثر چند جدایه تریکودرما را روی قارچ *F.axysporum lycopersici(Sacc.) Snyder & Hansenf.sp.l* عامل پژمردگی فوزاریومی گوجه‌فرنگی بررسی کرده و نقش مؤثر آنها را در کاهش بیماری گزارش نمود. کرمپور(۵) تأثیر چند جدایه تریکودرما و کلیوکلادیوم علیه *F.solani(Mart.)Apple & Wr.* عامل بیماری پوسیدگی سیاه فوزاریومی ریشه نخود ایرانی را در شرایط آزمایشگاه و گلخانه بررسی کرده و اثر قارچهای آنتاگونیست در کاهش بیماری و افزایش وزن تر بوته‌ها را گزارش کرد. اخوت و همکاران(۱) اثر آنتاگونیستی چند جدایه تریکودرما را روی *Phytophthora erythroseptica Pethybr.* عامل پوسیدگی صورتی غدد سیب‌زمینی بررسی کرده و اثر مثبت تریکودرما در کاهش بیماری را گزارش کردند.

با توجه به اهمیت بیماری بوته میری زیره‌سبز در خراسان و خساراتی که همه ساله این بیماری وارد می‌کند و نیز با توجه به طولانی بودن دوره حساسیت گیاه و عدم کارایی مبارزه شیمیایی و فقدان واریته مقاوم به بیماری، مبارزه بیولوژیک در صورت داشتن کارایی لازم در کنترل بیماری می‌تواند بعنوان روشی که دارای کمترین معارضه با تعادل بیولوژیکی باشد، مورد توجه قرار گیرد. هدف از این

تحقیق نیز بررسی تأثیر قارچهای آنتاگونیست در دسترس روی عامل این بیماری در مقایسه با قارچکشهای مؤثر می‌باشد.

مواد و روشها

در این بررسی *F. oxysporum f.sp. cumini* عامل بیماری پژمردگی فوزاریومی زیره‌سبز از حاجیان[1] دریافت شد. هرچند بیماریزایی این جدایه قبلاً توسط نامبرده به اثبات رسیده بود، درعین حال مجدداً بیماریزایی آن بررسی و ثابت شد. سایر مراحل این بررسی بشرح زیر انجام گرفت.

I ـ بررسیهای آزمایشگاهی

الف ـ تهیه جدایه‌های آنتاگونیست

به منظور جداسازی قارچهای آنتاگونیست تریکودرما و گلیوکلادیوم، نمونه‌هایی از عمق ۲۰ ـ ۱۵ سانتیمتری خاک بعضی مزارع زیره‌سبز خراسان برداشت و در کیسه‌های پلاستیکی به آزمایشگاه منتقل شد. جهت جداسازی آنتاگونیست‌ها از محیط کشت انتخابی داوه[2] به نقل از کرمپور(۵) و برای شناسایی این قارچها از کلیدهای ریفایی(۲۴)، دمش و همکاران(۱۷) استفاده شد.

ب ـ اثرات آنتاگونیستی جدایه‌های تریکودرما و گلیوکلادیوم

۱ـ بررسی اثر میکوپارانشیم آنتاگونیست‌ها بر

F.oxysporum f.sp. cumini

به این منظور یک لام سترون در وسط ظرف پتری حاوی محیط PDA که هنوز منعقد نشده بود طوری قرار داده شد، که سطح فوقانی آن توسط لایه نازکی از محیط کشت پوشیده شود(۱). سپس در حاشیه پتری به فاصله یک سانتیمتری لام، دریک طرف، یک قطعه محیط کشت به قطر ۵ میلیمتر از کشت ۴ روزه فوزاریوم و در طرف دیگر لام قطعه‌ای به همین قطر از کشت ۳ روزه آنتاگونیست‌ها قرار داده شد. این پتریها در انکوباتور با دمای ۱±۲۶ درجه سانتیگراد قرار گرفتند. پس از آن که ریسه‌های دو قارچ به یکدیگر رسیدند. لامها از داخل ظروف پتری برداشته و نحوه ارتباط ریسه‌ای دو قارچ توسط میکروسکپ با بزرگنمایی ۱۰x و ۴۰x بررسی شد.

۲ـ بررسی رقابت غذایی آنتاگونیست‌ها

رقابت غذایی آنتاگونیست‌ها با فوزاریوم به روش کشت دوطرفه[3] بررسی شد(۵ و ۱۳). در یک طرف محیط کشت PDA در ظروف پتری به قطر ۹cm، یک قطعه به قطر ۵ میلیمتر از کشت ۴ روزه فوزاریوم و در طرف مقابل آن یک قطعه از کشت ۳ روزه آنتاگونیست‌ها در ۳ تکرار (ظروف پتری) کشت داده شد. پتریها در انکوباتور با دمای ۱±۲۶ درجه سانتیگراد قرار گرفتند. بعداز کشت هر دو روز یکبار از میزان رشد قارچهای آنتاگونیست و فوزاریوم یادداشت‌برداری شد و نهایتاً بعد از دو روز اندازه‌گیری و مورد بررسی قرار گرفت.

۳ـ بررسی اثر ترشحات مایع خارج سلولی آنتاگونیست‌ها

این بررسی در قالب یک آزمایش فاکتوریل (دو فاکتور جدایه آنتاگونیست و غلظت ترشحات مایع خارج سلولی) با طرح کاملاً تصادفی اجرا شد. برای این منظور، ابتدا محیط کشت داوه بدون آگار به میزان ۱۵۰ میلی‌لیتر، به هر فلاسک منتقل شد. پس از استریل کردن، به هر فلاسک ۴ قطعه به قطر ۱ سانتیمتر از کشت ۴ روزه آنتاگونیست‌ها انتقال یافت. فلاسک‌ها به مدت ۱۰ روز بر روی دستگاه تکان دهنده با ۶۰ تکان در دقیقه قرار گرفتند. محتویات فاسک‌ها ابتدا با صافی معمولی و سپس بوسیله صافی میلی‌پور به قطر روزنه ۰/۲۲ میکرومتر فیلتر شد. عصاره حاصل به نسبتهای ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۲۵، ۳۰ درصد با محیط کشت PDA در دمای ۴۵ درجه سانتیگراد در لوله‌های آزمایش مخلوط و بلافاصله محتویات لوله‌ها به پتری‌های سترون منتقل شد. بعد از انعقاد کشتها، به هر کدام یک قطعه به قطر ۵ میلیمتر از کشت ۴ روزه فوزاریوم اضافه شد. در این آزمایش برای هریک از غلظت‌ها ۳ تکرار اختصاص یافت. پتریها در انکوباتور با دمای ۱±۲۶ درجه سانتیگراد انتقال یافتند و بعد از ۴ روز قطر کلنی فوزاریوم برحسب میلیمتر اندازه‌گیری شد. ضمناً درتیمار شاهد از عصاره فیلتر شده محیط داوه بدون آگار به نسبتهای فوق استفاده شد. درصد ممانعت از رشد توسط ترشحات مایع خارجی سلولی از رابطه زیر که از این پس بنام رابطه ۱ ذکر می‌شود محاسبه شد(۵).

$$\text{درصد ممانعت از رشد} = \frac{(\text{میانگین قطر کلنی درتیمار})-(\text{میانگین قطر کلنی فوزاریوم درشاهد})}{(\text{میانگین قطر کلنی درشاهد})}(۱۰۰)$$

داده‌های بدست آمده مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. گروه‌بندی هر دو فاکتور(جدایه و غلظت) با استفاده از آزمون

---

۱ ـ عضو هیئت علمی مرکز تحقیقات منابع طبیعی و امور دام خراسان

2 - Davet, 1971

3 - Dubal culture

کمترین اختلاف معنی‌دار (L.SD) در سطح P=۹۵٪ انجام شده است.

۴- بررسی اثر ترکیبات گازی آنتاگونیست‌ها

این آزمایش در قالب یک طرح آماری کاملاً تصادفی شامل ۷ تیمار و ۴ تکرار در ۴ مرحله اجرا شد. تیمارها شامل جدایه آنتاگونیست‌ها T_1, T_2, T_3, T_4, G_1, G_2 و شاهد بودند. در مرحله اول آزمایش اثر ترکیبات فرار کشت همزمان آنتاگونیست‌ها با فوزاریوم بررسی شد. به این منظور به پتریهای حاوی محیط PDA در ۴ تکرار یک قطعه به قطر ۵ میلیمتر از کشت ۳ روزه آنتاگونیست‌ها انتقال یافت. در پتری‌های دیگری نیز قطعه‌ای به قطر ۵ میلیمتر از کشت ۴ روزه فوزاریوم منتقل شد. سپس در مجاورت شعله درب پتریهای حاوی فوزاریوم و آنتاگونیست‌ها برداشته شد و پتری حاوی فوزاریوم بطور وارونه بر روی پتری حاوی آنتاگونیست‌ها قرار داده شد و فضای بین دو لبه پتری‌ها بوسیله چسب نواری کاملاً مسدود گردید. پتریها به مدت ۴ روز در دمای ۱±۲۶ درجه سانتیگراد نگهداری شده و سپس قطر کلنی فوزاریوم اندازه‌گیری شد. درصد ممانعت رشد فوزاریوم از رابطه (۱) محاسبه گردید. در مراحل دوم، سوم و چهارم آزمایش به ترتیب از کشت ۴۸ ساعته، ۷۲ ساعته و ۹۶ ساعته آنتاگونیست‌ها به روش فوق قبل از کشت فوزاریوم انجام شد. نتایج آزمایش (قطر رشد کلنی فوزاریوم) مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند.

۵- بررسی اثر چند قارچکش بر *F.oxysporum f.sp. cumini* در شرایط آزمایشگاه

این بررسی در قالب یک آزمایش فاکتوریل (دو فاکتور قارچکش و غلظت) با طرح کاملاً تصادفی اجرا شد. در این آزمایش قارچکشهای بنومیل پودر و تابل ۵۰٪ کربوکسین تیرام پودر و تابل ۷۵٪، کاپتان پودر و تابل ۵۰٪ و رورال تی‌اس (ایپرودیون + کاربندازیم) پودر و تابل ۵۲/۵٪ مورد استفاده قرار گرفتند. غلظتهای ۱۰۰، ۱۰، ۳، ۲، ۱، ۰/۳، ۰/۲ و ۰/۱ میلیگرم در لیتر قارچکشها براساس ماده مؤثره در محیط کشت PDA به روش هورس‌فال[1] ۱۹۵۶ به نقل از نیک‌نژاد(۷) در ۳ تکرار تهیه شد. پس از انعقاد محیط کشتهای مخلوط با سم، به وسط هرکدام، یک قطعه به قطر ۵ میلیمتر از کشت ۴ روزه فوزاریوم انتقال یافت. پتریها به مدت ۴ روز در انکوباتور با دمای ۱±۲۶ درجه سانتیگراد نگهداری شدند و سپس قطر رشد کلنی فوزاریوم اندازه‌گیری شد. درصد ممانعت از رشد از رابطه (۱) محاسبه گردید. داده‌های بدست آمده از آزمایش(قطر رشد میسلیوم فوزاریوم برحسب میلیمتر در هر غلظت) مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. گروه‌بندی هر دو عامل قارچکش و غلظت با استفاده از آزمون کمترین اختلاف معنی‌دار (LSD) در سطح (P=۹۵٪) انجام شده است.

II- بررسیهای گلخانه‌ای

الف - بررسی و مقایسه اثر ضدعفونی بذر با قارچکشها و پوشش دادن بذر با اسپور آنتاگونیستها در کنترل بیماری پژمردگی فوزاریومی زیره‌سبز در گلخانه

این آزمایش در قالب یک طرح آماری کاملاً تصادفی شامل ۹ تیمار و ۴ تکرار در گلخانه اجرا شد. تیمارها شامل ضدعفونی بذر با قارچکشهای بنومیل و رورال تی‌اس (به نسبت ۰/۱۵٪)، کربوکسین تیرام و کاپتان (به نسبت ۰/۲۵٪)، پوشش دادن بذر با اسپور ۳ جدایه آنتاگونیست و نیز شاهد آلوده و شاهد غیرآلوده بود. به منظور پوشش دادن بذر با اسپور آنتاگونیست‌ها، ابتدا سوسپانسیون غلیظی از اسپور آنتاگونیست‌ها در آب مقطر سترون تهیه و برای هر یک گرم بذر یک میلی‌لیتر از این سوسپانسیون اضافه شد. میانگین تعداد اسپور برای هر بذر در جدا شده‌های G_1، T_1 و T_2 به ترتیب $۳/۱\times۱۰^{۶}$، $۳/۷\times۱۰^{۶}$ و $۸/۲\times۱۰^{۶}$ اندازه‌گیری شد.

خاک گلدانی کلیه تیمارها بجز شاهد غیرآلوده به نسبت وزنی ۱:۱۰ با مایه عامل بیماری تکثیر شده در محیط ماسه + آرد ذرت، مخلوط شد. در هر گلدان ۳۰ عدد بذر زیره‌سبز تیمار شده کاشته شد. گلدانها در گلخانه با دمای ۲۲-۱۵ درجه سانتیگراد قرار گرفته و هر دو روز یکبار آبیاری شدند. از گیاهان سالم و بیمار هر تیمار بعد از ۹ هفته یادداشت برداری صورت گرفت و درصد گیاهان بیمار و درصد کاهش بیماری در هر تیمار از روابط زیر محاسبه شد.

(درصدگیاهان بیمار درتیمار) - (درصد گیاهان بیمار در شاهد آلوده) = درصد کاهش بیماری

$$\text{درصد گیاهان بیمار} = \frac{(\text{تعداد گیاهان سالم در تیمار}) - (\text{تعداد گیاهان سالم در شاهد غیرآلوده})}{(\text{تعداد گیاهان سالم در شاهد غیرآلوده})}(۱۰۰)$$

ب - تأثیر قارچهای آنتاگونیست در جلوگیری از بیماری پژمردگی فوزاریومی زیره‌سبز درگلخانه

این آزمایش در قالب یک طرح آماری کاملاً تصادفی شامل

1 - Horsfall, 1956

۸ تیمار و ۴ تکرار در گلخانه اجرا شد. تیمارها شامل ۶ جدایه آنتاگونیست و شاهد آلوده و شاهد غیرآلوده بود. خاک گلدانی کلیه تیمارها بجز شاهد غیرآلوده به نسبت وزنی ۱:۱۰ با مایه عامل بیماری تکثیر شده در محیط ماسه + آرد ذرت مخلوط شد. سپس خاک آلوده به نسبت وزنی ۱:۱۰ با مایه آنتاگونیست‌های تکثیر شده بر روی سبوس گندم تخمیر شده به روش زیر مخلوط شد.

برای تکثیر آنتاگونیست‌ها، ابتدا سبوس گندم مرطوب به مدت یک ساعت در حرارت ۱۲۱ درجه سانتیگراد و فشار ۱/۵ اتمسفر سترون شد. متعاقباً سبوس در شرایط گلخانه با دمای ۳۰-۲۸ درجه سانتیگراد و رطوبت نسبی بالا بمدت یک هفته بصورت رو باز قرار گرفت تا تخمیر شود. سپس در دو روز متوالی هر نوبت یک ساعت اتوکلاو گردید(۱۲۱ درجه سانتیگراد). این سبوس تخمیر و سترون شده به مقدار ۵۰۰ گرم به کیسه‌های پلاستیکی انتقال یافت. به هر کیسه ۲۰ میلی‌لیتر از سوسپانسیون اسپور آنتاگونیست‌ها که حاوی 1×10^{6} اسپور در هر میلی‌لیتر بود اضافه شد و کیسه‌ها به مدت سه هفته در اتاقک رشد با دمای ۱±۲۶ درجه سانتیگراد قرار گرفتند. در تیمار شاهد آلوده و غیرآلوده از سبوس گندم سترون استفاده شد.

در هر گلدان ۳۰ عدد بذر زیره‌سبز، پس از ضدعفونی سطحی با هیپوکلریت سدیم ۱٪ به مدت ۳ دقیقه کشت شد. شرایط نگهداری گلدانها در گلخانه مانند آزمایش قبل بود. بعد از ۹ هفته گیاهان سالم و بیمار هر تیمار مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج

آنتاگونیست‌های جدا شده از خاک مزارع زیره‌سبز خراسان، براساس کلیدهای ریفایی(۲۴)، دمش و همکاران (۱۷) به گونه‌های *T.harzianum* (شامل ۴ جدایه T_1, T_2, T_3, T_4) و *Gliocladium virens* (دو جدایه G_1 و G_2) تعلق داشتند.

در بررسی میکروسکوپی نحوهٔ میکوپارازیتیسم، مشخص شد که ریسه آنتاگونیست‌ها در مراحل اولیه برخورد با ریسه‌های فوزاریوم ابتدا با آنها تماس ریسه‌ای برقرار کرده و به موازات ریسه‌های فوزاریوم رشد می‌کنند. در مراحل بعدی ریسه آنتاگونیست‌ها انشعابات بیشتری پیدا نموده و بدور ریسه‌های فوزاریوم می‌پیچند. شواهدی مبتنی بر تولید اندامکهای تخصص یافته برای نفوذ به ریسه فوزاریوم مشاهده نشد ولی توقف رشد، دفرمه و متلاشی شدن ریسه‌های فوزاریوم قابل مشاهده بود.

نتایج آزمایش بررسی رقابت غذایی آنتاگونیست‌ها با فوزاریوم در جدول ۱ خلاصه شده است. در این آزمایش مشخص شد همه جدایه‌ها پس از برخورد با ریسه‌های فوزاریوم باعث توقف رشد آنها شده و سپس با پیشروی بر روی میسلیوم فوزاریوم شروع به تشکیل کلنی و اسپورزایی می‌نمایند.

ترشحات مایع خارج سلولی جدایه G_1 در غلظت ۳۰٪ با ۳۶/۶۲٪ ممانعت از رشد فوزاریوم اثر بیشتری از سایر جدایه‌ها داشت و جدایه T_2 با ۲۴/۲۲٪ کمترین تأثیر را داشته است. نتایج این آزمایش در جدول ۲ خلاصه شده است.

نتایج آزمایش تأثیر ترکیبات فرار آنتاگونیست‌ها در کاهش رشد فوزاریوم در جدول ۳ خلاصه شده است. در این بررسی مشخص شد با افزایش سن کشت آنتاگویست‌ها اثر آنتی‌بیوتیکی ترکیبات فرار آنها در کاهش رشد فوزاریوم افزایش می‌یابد. ترکیبات فرار کشت ۹۶ ساعته جدایه T_4 با ۴۶/۰۸ درصد ممانعت از رشد از سایر جدایه‌ها مؤثرتر بود.

در بررسی تأثیر قارچکشها در ممانعت از رشد فوزاریوم مشخص شد که قارچکشهای بنومیل و رورال تی‌اس (ایپرودیون + کاربندازیم) در غلظتهای بالاتر از ۲ میلی‌گرم در لیتر تأثیر بسیار شدیدی در ممانعت از رشد فوزاریوم دارند اما قارچکشهای کربوکسین تیرام و کاپتان دارای تأثیر نسبتاً ضعیف‌تری بودند. غلظت‌های مؤثر ۵۰٪ (EC_{50}) محاسبه شده برای این قارچکشها عبارتند از: بنومیل (۱/۶۳ mg/lit.)، رورال تی‌اس (۱/۸۶ mg/lit.)، کربوکسین تیرام (۶/۸۵ mg/lit.) و کاپتان (۱۴/۱۸ mg/lit.). نتایج این آزمایش در جدول ۴ خلاصه شده است.

نتایج آزمایش تأثیر ضدعفونی بذر با قارچکشها و پوشش دادن بذر با اسپور آنتاگونیست‌ها بر کنترل بیماری نشان داد که پوشش دادن بذر با اسپور آنتاگونیست‌ها می‌تواند تاحد قابل ملاحظه‌ای بیماری را کنترل کند. در این بررسی پوشش دادن بذر با اسپور جدایه T_2 با ۶۵/۴٪ کاهش بیماری اثر بیشتری از سایر جدایه‌ها و همچنین ضدعفونی بذرباقارچکشهاراداشت.دربین قارچکشها نیز رورال تی‌اس (ایپرودیون + کاربندازیم)وبنومیل بترتیب با۶۰/۸٪و ۵۰/۵٪ کاهش بیماری نسبت به قارچکش‌های کاپتان و کربوکسین تیرام مؤثرتر بودند. نتایج این آزمایش در جدول ۵ خلاصه شده است.

جدول ۱ ـ رقابت غذایی آنتاگونیست‌ها با قارچ عامل بیماری پژمردگی فوزاریومی زیره‌سبز براساس میزان رشد کلنی آنها به میلیمتر

قدرت رقابت غذایی	میانگین قطرکلنی آنتاگونیست‌ها به میلیمتر پس از ۱۰ روز	محل نمونه‌برداری	جدایه‌های آنتاگونیست
متوسط	۵۸[c]	تربت جام	Gliocladium (G_1)
خوب	۶۱[c]	مشهد	Gliocladium (G_2)
خوب	۶۹[b]	کاشمر	Trichoderma (T_1)
قوی	۷۳[ab]	بردسکن ۱	Trichoderma (T_2)
قوی	۷۵[a]	بردسکن ۲	Trichoderma (T_3)
خوب	۷۱[ab]	مشهد	Trichoderma (T_4)

گروه‌بندی آماری تیمارها با آزمون کمترین اختلاف معنی‌دار (LSD) در سطح ٪۹۵ = P انجام شده است.

اعدادی که با حروف یکسان مشخص شده‌اند در سطح ٪۵ اختلاف معنی‌دار ندارند.

ـ در این جدول، میزان رقابت غذایی براساس میزان رشد آنتاگونیست‌ها نسبت به رشد فوزاریوم بشرح زیر می‌باشد:

ـ اگر قارچ آنتاگونیست (۱۰۰-۸۰) درصد محیط کشت را اشغال کند، رقابت غذایی قوی دارد.

ـ اگر قارچ آنتاگونیست (۸۰-۶۵) درصد محیط کشت را اشغال کند، رقابت غذایی خوبی دارد.

ـ اگر قارچ آنتاگونیست (۶۵-۵۰) درصد محیط کشت را اشغال کند، رقابت غذایی متوسط دارد.

ـ اگر قارچ آنتاگونیست کمتر از ۵۰ درصد محیط کشت را اشغال کند، رقابت غذایی ضعیف دارد.

جدول ۲ ـ تأثیر غلظت‌های مختلف ترشحات مایع خارج سلولی چند جدایه آنتاگونیست بر رشد فوزاریوم

جدایه آنتاگونیست	غلظت ۳۰٪ a	غلظت ۲۵٪ b	غلظت ۲۰٪ c	غلظت ۱۵٪ d	غلظت ۱۰٪ e
T_1 bc	۳۰/۳۷	۲۲/۶	۱۲/۷۹	۲/۹۲	۰/۸۶
T_2 d	۲۴/۲۲	۱۵/۵۵	۸/۵۳	۱/۲۵	۰
T_3 c	۲۸/۳۲	۱۷/۰۴	۱۱/۲۵	۲/۵	۰/۸۶
T_4 b	۲۹/۳۴	۲۰/۷۵	۱۴/۳۴	۵/۴۲	۱/۶۹
G_1 a	۳۶/۶۲	۲۴	۱۵/۹	۵	۲/۱۲
G_2 b	۳۲/۴۱	۲۱/۴۸	۱۳/۹۵	۳/۷۵	۱/۲۶

ـ اعداد متن جدول درصد ممانعت از رشد فوزاریوم در اثر ترشحات مایع خارج سلوی آنتاگونیست‌ها می‌باشد. G = Gliocladium و T = Trichoderma

ـ گروه‌بندی هر دو فاکتور جدایه و غلظت با آزمون کمترین اختلاف معنی‌دار در سطح ٪۹۵ = P انجام شده است. تیمارهایی که با حروف یکسان مشخص شده‌اند در سطح ٪۵ اختلاف معنی‌دار ندارند.

جدول ۳ - تأثیر ترکیبات فرار آنتاگونیست‌ها بر رشد میسلیوم فوزاریوم

سن آنتاگونیست	کشت همزمان		کشت ۴۸ ساعته		کشت ۷۲ ساعته		کشت ۹۶ ساعته	
جدایه	درصدممانعت از رشد		درصدممانعت از رشد		درصدممانعت از رشد		درصدممانعت از رشد	
T_1	۱۷/۰۴	bc	۱۸/۲۶	b	۲۷/۶۹	b	۳۵/۲	bc
T_2	۱۸/۹۵	c	۲۱/۴۲	b	۳۰	b	۳۸/۱۵	bc
T_3	۱۲/۱۳	bc	۱۸/۶۶	b	۲۷/۶۹	b	۳۵/۵۵	bc
T_4	۱۴/۰۲	bc	۱۵/۰۹	b	۳۲/۳۱	b	۴۶/۰۸	d
G_1	۷/۲	ab	۱۰/۳۳	ab	۲۳/۰۷	b	۳۹/۶۴	cd
G_2	۱۴/۰۲	bc	۱۹۰/۴	b	۲۶/۱۴	b	۳۴/۴۴	b
شاهد	۰	a	۰	a	۰	a	۰	a

-گروه‌بندی آماری تیمارهای بوسیله آزمون کمترین اختلاف معنی‌دار (LSD) در سطح (P = ۹۵٪) انجام شده است. تیمارهایی که با حروف مشابه نشانداده شده‌اند در سطح ۵٪ تفاوت معنی‌داری ندارند.

جدول ۴ - تأثیر قارچکشها در جلوگیری از رشد کلنی *Fusarium oxysporum f.sp. cuntini* در محیط کشت PDA

قارچکش غلظت (mg/lit.)	بنومیل c	رورال تی‌اس b	کربوکسین - تیرام a	کاپتان a
۱۰۰ h	۱۰۰	۱۰۰	۸۱/۶۷	۷۲/۴۷
۱۰ g	۱۰۰	۸۵/۳۹	۵۵/۴۲	۴۵/۸۸
۳ f	۷۴/۱۹	۶۰/۷۳	۳۳/۳۵	۳۲/۵۶
۲ e	۶۰/۸۴	۵۹/۳۶	۲۸/۷۵	۲۶/۱۲
۱ d	۲۰/۲۷	۳۰/۱۳	۲۶/۲۵	۲۰/۶۴
۰/۳ c	۱۲/۴۴	۱۲/۳۲	۲۴/۱۷	۱۵/۱۳
۰/۲ b	۴/۵۹	۶/۸۴	۲۰/۴۲	۱۰/۵۴
۰/۱ a	۲/۲۹	۳/۲	۱۸/۷۵	۶/۴۱

اعداد متن جدول درصد ممانعت از رشد فوزاریوم توسط غلظتهای مختلف قارچکشها را نشان می‌دهد.

گروه‌بندی هر دو فاکتور قارچکش و غلظت با استفاده از آزمون کمترین اختلاف معنی‌دار (LSD) در سطح P=۹۵٪ انجام شده است. تیمارهایی که با حروف مشابه نشان داده شده‌اند در سطح ۵٪ اختلاف معنی‌دار ندارند.

جدول ۵ ـ تأثیر ضدعفونی بذر با قارچکشها و پوشش دادن بذر با اسپور آنتاگونیست‌ها برکاهش بیماری پژمردگی فوزاریوم زیره‌سبز

درصد کاهش بیماری	درصد گیاهان بیمار	تعداد گیاهان سالم	تیمارها
۷۳/۸[a]	۰	۱۰۷	شاهد غیرآلوده
۰[e]	۷۳/۸	۲۸	شاهد آلوده
۵۰/۵[bc]	۲۳/۳	۸۲	ضدعفونی بذر با بنومیل
۶۰/۸[ab]	۱۳	۹۳	ضدعفونی بذر با رورال تی‌اس
۲۴/۳[d]	۴۹/۵	۵۴	ضدعفونی بذر باکربوکسین تیرام
۱۸/۷[d]	۵۵/۱	۴۸	ضدعفونی بذر باکاپتان
۴۹/۶[bc]	۲۴/۲	۸۱	پوشش دادن بذر با اسپور جدایه G_1
۴۰/۲[c]	۳۳/۶	۷۱	پوشش دادن بذر با اسپور جدایه T_1
۶۵/۴[a]	۸/۴	۹۸	پوشش دادن بذر با اسپور جدایه T_2

به منظور توزیع نرمال از تبدیل x استفاده شده است و گروه‌بندی آماری تیمارها بوسیله آزمون چند دامنه‌ای دانکن (P = ۹۵٪) انجام شد. تیمارهایی که با حروف مشابه نشان داده شده‌اند در سطح ۵٪ تفاوت آماری معنی‌داری ندارند.

جدول ۶ ـ تأثیرافزودن مایهٔ آنتاگونیست‌ها به خاک برکاهش بیماری پژمردگی فوزاریومی زیره‌سبز در گلخانه

درصد کاهش بیماری	درصد گیاهان بیمار	تعداد گیاهان سالم	تیمارها
۶۷/۳[a]	۰	۱۰۴	شاهد غیرآلوده
۰[e]	۶۷/۳	۳۴	شاهد آلوده
۳۴/۷[c]	۳۲/۶	۷۰	جدایه G_1 + فوزاریوم
۲۲/۲[d]	۴۵/۱	۵۷	جدایه G_2 + فوزاریوم
۲۹/۸[cd]	۳۷/۵	۶۵	جدایه T_1 + فوزاریوم
۶۲/۵[ab]	۴/۸	۹۹	جدایه T_2 + فوزاریوم
۴۹/۱[b]	۱۸/۲	۸۵	جدایه T_3 + فوزاریوم
۵۵/۸[ab]	۱۱/۵	۹۲	جدایه T_4 + فوزاریوم

به منظور توزیع نرمال از تبدیل x استفاده شده است. گروه‌بندی آماری تیمارها بوسیله آزمون چند دامنه‌ای دانکن (P = ۹۵٪) انجام شده است. تیمارهایی که با حروف مشابه نشان داده شده‌اند در سطح ۵٪ اختلاف معنی‌داری ندارند.

نتایج آزمایش تأثیر افزودن مایهٔ آنتاگونیست‌های تکثیر شده‌بر روی سبوس گندم تخمیر شده به خاک گلدانها نشان داد که، مخلوط کردن خاک آلوده به فوزاریوم با جدایه T_2 قارچ *T.harzianum* با ۶۲/۵٪ کاهش بیماری اثر بیشتری از سایر جدایه‌ها داشت و جدایه‌های دیگر نیز تأثیر خوبی در کاهش بیماری داشتند. نتایج این آزمایش در جدول ۶ خلاصه شده است.

بحث

در این بررسی چند جدایه از قارچهای آنتاگونیست *T. harzianum* و *Gliocladium virens* از خاک مزارع

زیره‌سبز خراسان جداسازی شد. همچنین تاکنون توسط محققین مختلف جدایه‌های زیادی از این قارچها از خاکهای مناطق مختلف کشور جداسازی شده‌اند که این امر نشاندهنده این است که این قارچها در میکوفلور خاکهای زراعی ایران بطور فعال حضور دارند و بخوبی با شرایط فیزیکوشیمیایی و اکولوژیکی این خاکها سازگاری یافته‌اند.

بررسی‌های آزمایشگاهی مشخص نمود که قارچهای آنتاگونیست تریکودرما و گلیوکلادیوم با مکانیزمهای مختلفی قادر به جلوگیری از فعالیت قارچ بیماریزای *F.oxrysorum f.sp cumini* می‌باشند. پدیدهٔ میکوپارازیتیسم یکی از مکانیزمهایی است که باعث توقف رشد و جلوگیری از فعالیت قارچهای بیماریزا می‌شود. به عقیدهٔ چت و هنیس (۱۲) میکوپارازیتیسم یکی از مکانیزیمهای اصلی در خاصیت آنتاگونیستی تریکودرما بعنوان عامل کنترل بیولوژیک عوامل بیماریزای گیاهی است. متابولیتهای فرار و غیرفرار آنتاگونیست‌ها توانستند در شرایط آزمایشگاه تاحدی از رشد فوزاریوم ممانعت کنند، هرچند این تأثیر از اثر غلظت‌های بالای قارچکشها ضعیف‌تر بود، ولی ذکر این نکته ضروری به نظر می‌رسد که این قارچها در صورت بالا بودن جمعیت‌شان در خاک بوسیلهٔ مکانیزمهای مختلفی قادر به کنترل عوامل بیماریزا می‌باشند. حال آنکه ترکیبات شیمیایی طیفی از میکروارگانیسمها از جمله میکروارگانیسم‌های مفید را نابود می‌سازند که این امر منجر به بهم خوردن تعادل و موازنه طبیعی موجودات زنده شده و در بلند مدت با از بین رفتن عوامل کنترل کننده طبیعی، جمعیت عوامل بیماریزا افزایش می‌یابد. در مورد این بیماری بعلت طولانی بودن دورهٔ حساسیت گیاه به نظر نمی‌رسد ضدعفونی بذر با قارچکشها در شرایط مزرعه بتواند بیماری را بخوبی کنترل کند. در عین حال باید مطالعات کاملتری در مورد تأثیر ضدعفونی بذر با قارچکشها در شرایط مزرعه انجام شود.

کاربرد قارچهای آنتاگونیست بصورت پوشش دادن بذر در شرایط گلخانه اثر قابل ملاحظه‌ای در کاهش بیماری داشته است. تیمار کردن بذر با میکروارگانیزمهای آنتاگونیست باتوجه به مزایایی که دارد برای کنترل بیماریهای بذر زاد و خاکزاد مورد توجه قرار گرفته است. از مزایای این روش می‌توان به حجم کم مایه آنتاگونیست لازم برای پوشش دادن بذر اشاره کرد. علاوه بر آن وقتی آنتاگونیست‌ها به خاک اضافه می‌شوند نسبت به حالتی که بصورت پوشش دادن بذر بکار می‌روند ممکن است شانس کمتری برای تماس با ریشه‌های گیاهان داشته باشند. بعلاوه این روش ارزانترین راه برای معرفی آنتاگونیست‌ها به ریزوسفر جهت محافظت گیاهان از عوامل بیماریزای خاکزاد است(۱۳).

افزودن مایهٔ آنتاگونیست‌های تکثیر شده بر روی سبوس گندم تخمیر شده بخاک در شرایط گلخانه توانسته است بیماری را تاحد قابل ملاحظه‌ای کنترل کند. وقتی جدایه‌های تریکودرمای تکثیر شده بر روی موادآلی به خاک اضافه می‌شوند بعلت وجود یک زمینهٔ غذایی به فراوانی تکثیر شده و برای مدت طولانی در خاک باقی می‌مانند(۱۹). بطورکلی از مجموعهٔ مطالعات آزمایشگاهی و گلخانه‌ای می‌توان نتیجه گرفت که قارچهای آنتاگونیست تریکودرما و گلیوکلادیوم دارای پتانسیل بالایی برای کنترل بیماری بوته میری زیره‌سبز می‌باشند و در صورتیکه جمعیت این قارچها در خاک افزایش یابد بخوبی خواهند توانست قارچ بیماریزای *F.oxysporum f.sp cumini* را کنترل کنند. در عین حال برای اطمینان از تأثیر مطلوب این روش باید مطالعات کاملتری در شرایط مزرعه انجام گیرد.

مراجع مورد استفاده REFERENCES

۱ـ اخوت. م. ق. حجارود، ح. روحانی و د. ظفری. ۱۳۷۳. بررسی اثر آنتاگونیست چند جدا شده Trichoderma روی *phytophthora erythroseptica* عامل بیماری پوسیدگی صورتی غدهٔ سیب‌زمینی. مجلهٔ علوم کشاورزی ایران. دانشکده کشاورزی کرج. جلد ۲۵، شماره ۲ : ۷۲-۶۱.

۲ـ حاجیان شهری، محمد. ۱۳۷۳. بررسی بیماری بوته میری زیره‌سبز در استان خراسان. پایان‌نامه کارشناسی ارشد بیماری شناسی گیاهی. دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران. ۶۶ ص.

۳ـ روحانی، ح. ۱۳۷۵. تحلیلی واقع گرایانه از مسائل مربوط به مبازه با آفات و بیماریهای گیاهی و علفهای هرز در ایران. مجلهٔ زیتون. ویژه نامه

شماره ۳ کاهش مصرف سموم و کودهای شیمیایی صفحات ۳۷-۳۲.

۴-روحانی، ح، ع. کریمی و ف. نوع پرست. ۱۳۷۰. نقش ایزوله‌های تریکودرما در مبارزه بیولوژیک علیه *Rhizoctonia solani*. مجلهٔ آفات و بیماریهای گیاهی. جلد ۵۸ (۲ و ۱): ۲۸-۱۷.

۵-کرمپور، ف. ۱۳۷۱. مبارزهٔ بیولوژیک با بیماری پوسیدگی سیاه ریشه نخود ایرانی بوسیلهٔ قارچ Trichoderma spp. پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد رشته بیماری شناسی‌گیاهی دانشگاه‌تهران. ۱۵۴ ص.

۶-نظری، س. ۱۳۷۰. بررسی اثرات قارچکشها و *Trichoderma harzianum* روی بیماری بوته میری خیار در اثر *Phytophthora drechsleri* پایان نامه کارشناسی ارشد رشته بیماری شناسی گیاهی، دانشگاه تهران. ۹۰ ص.

۷-نیک‌نژاد کاظم‌پور، م. ۱۳۷۱. بررسی اثر چند قارچکش و قارچ تریکودرما روی عامل بیماری پژمردگی فوزاریومی گوجه‌فرنگی. پایان‌نامه کارشناسی ارشد بیماری شناسی گیاهی دانشگاه تهران. ۱۳۴ ص.

8. Baker, K. F. and R. J. Cook. 1982. Biological control of plant pathogens. APS. Press. 433 p.

9. Booth, C. 1971. The Genus Fusarium. C. A. B. pub. England. 237 p.

10. Champawat, R. S. 1990. Field screening of cumin germplasm against *Fusarium oxysporum f.sp. cumini*. Indian Cocoa, Arecanut and Spices journal. 13: 142.

11. Champawat, R. S. and V. N. Pathak, 1988. Soil application of different insecticides and nematicides for the control of wilt of cumin. Indian J. Plant Prot. 16: 195-196.

12. Chet, I. and Y. Henis, 1985. *Trichoderma* as a biocontrol agent against soil borne root pathogens. Pages: 110-112. in; Ecology and management of Soil Borne Plant Pathogens. C. A. Parker, A. D. Rovira, K. J. Moore, P. T. W. Wong and J. F. Kollmorgen, eds. APS Press. 358p.

13. Chung, H. S. and W. B. Choi. 1990. Biological control of sesame damping off in the field by coating seed with antagonistic *Trichoderma viride*. Seed Sci. & Technol. 18: 451-459.

14. Cook, R. J. and K. F. Baker. 1983. The Nature and Practice of Biological Control of Plant Pathogens. APS Press. 539p.

15. De, R. K. and R. G. Naimudd, 1997. Comparative efficacy of biocontrol agents and fungicides for controling chickpea wilt caused by *F.oxysporum f.sp. ciceri*. Review of Plant Pathology 76(2): 168-169.

16. Dewivedi, R. 1984. Biocontrol of Fusarial wilt by *Trichoderma harzianum*. Indian J. Agric. Sci. 54(6): 513-514.

17. Domsch, K. H., W. Gams and T. H. Anderson, 1980. Compendium of Soil Fungi, Academic press. London. England Vol 1: 794-809.

18. Fravel, D. R. 1988. Role of antibiosis in the biocontrol of plant disease. Ann. Rev. Phytopathol. 26. 75-91.

19. Jearajan, R., G. Pamakrishnan and R. Sridar. 1993. Biological Control of Soil Borne Disease-Future prospects. pages: 43-49 in: Crop Disease Innovative Techniques and Management. K. Sivaprakasam and K. Seetharaman, eds. Kalyani publishers. India. 584p.

20. Mao, W., J. A. Iewis, P. K. Hebbar and R. D. Lumsden. 1997. Seed treatment with a fungal or a

bacterial antagonist for reducing corn damping-off caused by species of Pythium and Fusarium. Plant Disease 81: 450-454.

21. Mathar, B. L. and N. Prasad. 1964. Studies on wilt disease of cumin caused by *F.oxysporum f.sp. cumini* Indian J. Agric. Sci. 34(2): 131-137.
22. Mukerji, K. G. and K. L. Garg,(eds). 1988. Biocontrol of Plant Diseases. CRC Press. Vol I. 211p.
23. Papavizas, G. C. 1985. *Trichoderma* and *Gliocladium.* Biology, Ecology and potential for biocontrol. Ann. Rev. Phytopathol. 23: 23-54.
24. Rifai, M. A. 1969. A revision of the genus Trichoderma. Mycol. Pap. 116: 1-56.
25. Sivan, A. and I. Chet. 1989. The possible role of competition between *Trichoderma harzianum* and *Fusarium oxysporum* on rhizosphere colonization. Phytopathol. 79(2): 198-203.
26. Welles, H. D. 1988. *Trichoderma* as a biocontrol agent. Pages: 71-82 in Biocontrol of Plant Disease. K. G. Mukerji and K. L. Garg, eds. CRC Press. Voll. 211p.

Comparison of Chemical and Biological Control of Cumin Wilt *(Fusarium Oxysporum f.sp. cumini)* in Lab. and Greenhouse Conditions

R. AGHNOOM, M. FALAHATI-RASTEGAR AND B. JAFARPOUR

Respectively Former Graduate Student, Associate Professor and Professor

Department of Plant Pathology, Faculty of Agriculture University of Ferdosi, Mashhad, Iran.

Accepted Sep. 29 1999

SUMMARY

Cumin wilt incited by *F.oxysporum f.sp cumini* Prasad & Patel is the most destructive disease of this crop in Khorasan province and causes considerable yield loss. Two species of antagonistic fungi were isolated from cumin fields soil, using Davet medium and identified as *Trichodrma harzianum* (4 isolates T_1 - T_4) and *Gliocladium virens* (2 isolates G_1 and G_2) according to Rifai (1969) and Domsch *et al.* (1980). The effect of 6 antagonistic fungal isolates and 4 fungicides were studied on *Fusarium* in viro and in vivo. Microscopic studies showed that the hyphae of antagonistic fungi by contacting and coiling, caused deformation and lysis of *Fusarium* hyphae. In dual culture test, all antagonistic isolates had a much faster growth rate comparing to *Fusarium* and reduced the pathogen colony diameters considerably. The volatile metabolites of all *Trichoderma* and *Gliocladium* isolates affected *Fusarium*. The 96 h. old culture of T_4 isolate had the best effect and inhibited mycelial growth of the pathogen by 16.08%. The culture filtrates of G_1 isolate at 30% concentration had the most effect and inhibited mycelial growth of *Fusarium* by 36.62%. Benomyl, Rovral T. S. (Iprodione-carbendazim), carboxin-thiram and captan at 10 mg/lit. reduced *Fusarium* mycelial growth by 100, 85, 39, 5, 42, 45, 88 percent respectively and also the EC_{50} of these fungicides were 1.63, 1.86, 6.85, 14.18 mg/lit. respectively. Under greenhouse conditions, seed dressing with *T.harzianum* T_2 isolate, lowered disease incidence by 65.4,% and showed to be more effective than seed treatment with fungicides. In greenhouse adding inoculum of antagonistic fungi to pots decreased disease incidence considerably and T_2 isolate with 62.5% disease reduction was most effective.

Keywords: Fusarium wilt, Biological Control